

Patentansprüche

1. Isoliertes Polynukleotid aus coryneformen Bakterien, enthaltend eine für das luxS-Gen kodierende Polynukleotidsequenz, ausgewählt aus der Gruppe
- 5 a) Polynukleotid, das mindestens zu 70% identisch ist mit einem Polynukleotid, das für ein Polypeptid kodiert, das die Aminosäuresequenz von SEQ ID No. 2 enthält,
- 10 b) Polynukleotid, das für ein Polypeptid kodiert, das eine Aminosäuresequenz enthält, die zu mindestens 70% identisch ist mit der Aminosäuresequenz von SEQ ID No. 2,
- c) Polynukleotid, das komplementär ist zu den Polynukleotiden von a) oder b), und
- 15 d) Polynukleotid, enthaltend mindestens 15 aufeinanderfolgende Nukleotide der Polynukleotidsequenz von a), b) oder c),
- wobei das Polypeptid bevorzugt die Aktivität der Histidin Kinase LuxS aufweist.
- 20 2. Polynukleotid gemäß Anspruch 1, wobei das Polynukleotid eine in coryneformen Bakterien replizierbare, bevorzugt rekombinante DNA ist.
3. Polynukleotid gemäß Anspruch 1, wobei das Polynukleotid eine RNA ist.
- 25 4. Polynukleotid gemäß Anspruch 2, enthaltend die Nukleinsäuresequenz wie in SEQ ID No. 1 dargestellt.
5. Replizierbare DNA gemäß Anspruch 2, enthaltend
- (i) die Nukleotidsequenz, gezeigt in SEQ ID No. 1, oder

000457 BT / IP

- (ii) mindestens eine Sequenz, die der Sequenz (i) innerhalb des Bereichs der Degeneration des genetischen Kodes entspricht, oder
- (iii) mindestens eine Sequenz, die mit der zur Sequenz (i) oder (ii) komplementären Sequenz hybridisiert, und gegebenenfalls
- (iv) funktionsneutrale Sinnmutationen in (i).
6. Replizierbare DNA gemäß Anspruch 2, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß die Hybridisierung unter einer Stringenz entsprechend höchstens 2x SSC durchgeführt wird.
7. Polynukleotidsequenz gemäß Anspruch 1, die für ein Polypeptid kodiert, das die in SEQ ID No. 2 dargestellte Aminosäuresequenz enthält.
8. Coryneforme Bakterien, in denen das luxS-Gen abgeschwächt, insbesondere ausgeschaltet wird.
9. Vektor pCR2.1luxSint, der
- 9.1 ein 492 bp großes internes Fragment der luxS-Gens trägt,
- 9.2 dessen Restriktionskarte in Figur 1 wiedergegeben wird, und
- 9.3 der in dem E. coli-Stamm Top10/pCR2.1luxSint unter der Nr. DSM 14082 bei der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen hinterlegt ist.
10. Verfahren zur fermentativen Herstellung von L-Aminosäuren, insbesondere Lysin, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man folgende Schritte durchführt:

- 5 a) Fermentation der die gewünschte L-Aminosäure produzierenden coryneformen Bakterien, in denen man zumindest das luxS-Gen oder dafür kodierende Nukleotidsequenzen abschwächt, insbesondere ausschaltet;
- b) Anreicherung der L-Aminosäure im Medium oder in den Zellen der Bakterien, und
- c) Isolieren der L-Aminosäure.
- 10 11. Verfahren gemäß Anspruch 10, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man Bakterien einsetzt, in denen man zusätzlich weitere Gene des Biosyntheseweges der gewünschten L-Aminosäure verstärkt.
- 15 12. Verfahren gemäß Anspruch 10, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man Bakterien einsetzt, in denen die Stoffwechselwege zumindest teilweise ausgeschaltet sind, die die Bildung der gewünschten L-Aminosäure verringern.
- 20 13. Verfahren gemäß Anspruch 10, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man die Expression des (der) Polynukleotides (e), das (die) für das luxS-Gen kodiert (kodieren) abschwächt, insbesondere ausschaltet.
- 25 14. Verfahren gemäß Anspruch 10, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man die regulatorischen beziehungsweise katalytischen Eigenschaften des Polypeptids (Enzymprotein) verringert, für das das Polynukleotid luxS kodiert.
- 30 15. Verfahren gemäß Anspruch 10, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man zur Herstellung von L-Aminosäuren coryneforme Mikroorganismen

fermentiert, in denen man gleichzeitig eines oder mehrere der Gene, ausgewählt aus der Gruppe

- | | | |
|----|-------|--|
| | 15.1 | das für die Dihydrodipicolinat-Synthase kodierende Gen dapA, |
| 5 | 15.2 | das für die Glyceraldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierende Gen gap, |
| | 15.3 | das für die Triosephosphat Isomerase kodierende Gen tpi, |
| 10 | 15.4 | das für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierende Gen pgk, |
| | 15.5 | das für die Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase kodierende Gen zwf, |
| | 15.6 | das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen pyc, |
| 15 | 15.7 | das für die Malat-Chinon-Oxidoreduktase kodierende Gen mqo, |
| | 15.8 | das für eine feed-back resistente Aspartatkinase kodierende Gen lysC, |
| | 15.9 | das für den Lysin-Export kodierende Gen lysE, |
| 20 | 15.10 | das für die Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen hom, |
| | 15.11 | das für die Threonin-Dehydratase kodierende Gen ilvA oder das für eine feed back resistente Threonin-Dehydratase kodierende Allel ilvA(Fbr), |
| 25 | | |
| | 15.12 | das für die Acetohydroxysäure-Synthase kodierende Gen ilvBN, |

- 15.13 das für die Dihydroxysäuredehydratase
kodierende Gen *ilvD*,
- 15.14 das für das *Zwa1*-Protein kodierende Gen *zwa1*
5 verstärkt bzw. überexprimiert.
16. Verfahren gemäß Anspruch 10, d a d u r c h
g e k e n n z e i c h n e t, daß man zur Herstellung
von L-Aminosäuren coryneforme Mikroorganismen
fermentiert, in denen man gleichzeitig eines oder
10 mehrere der Gene, ausgewählt aus der Gruppe
- 16.1 das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase
kodierende Gen *pck*,
- 16.2 das für die Glucose-6-Phosphat Isomerase
kodierende Gen *pgi*,
- 15 16.3 das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen *poxB*
- 16.4 das für das *Zwa2*-Protein kodierende Gen *zwa2*
abschwächt.
17. Coryneforme Bakterien, die einen Vektor enthalten, der
Teile des Polynukleotids, mindestens aber 15
20 aufeinanderfolgende Nukleotide der Sequenz gemäß
Anspruch 1, trägt.
18. Verfahren gemäß einem oder mehreren der vorhergehenden
Ansprüche, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
daß man Mikroorganismen der Art *Corynebacterium*
25 *glutamicum* einsetzt.
19. Verfahren zum Auffinden von RNA, cDNA und DNA, um
Nukleinsäuren, beziehungsweise Polynukleotide oder Gene
zu isolieren, die für die Histidin Kinase *LuxS* kodieren
oder eine hohe Ähnlichkeit mit der Sequenz des *luxS*-
30 Gens aufweisen, d a d u r c h

T 0 0 0 4 5 7 B T / I P

g e k e n n z e i c h n e t, daß man das Polynukleotid,
enthaltend die Polynukleotidsequenzen gemäß den
Ansprüchen 1, 2, 3 oder 4 als Hybridisierungssonden
einsetzt.

000457 BT / I